

$^{99}\text{Tc}^m$ 标记小干扰 RNA 探针的干扰活性及其在荷瘤鼠体内的生物分布

康磊¹, 王荣福¹, 闫平¹, 张春丽¹, 刘萌¹, 徐小洁²

(1. 北京大学第一医院核医学科, 北京 100034;
2. 军事医学科学院生物工程研究所, 北京 100850)

摘要: 使用双功能螯合剂 NHS-MAG₃ 和氯化亚锡还原法构建 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记的小干扰 RNA (Small Interference RNA, siRNA) 探针。将标记和未标记的端粒逆转录酶 (Human Telomerase Reverse Transcriptase, hTERT) 靶向 siRNA 转染至肝癌 HepG2 细胞, 72 h 后, 蛋白印迹法显示两者具有相近的蛋白抑制率 (约 76.7%)。标记物在荷 HepG 肿瘤裸鼠体内的生物分布显示, 肾脏分布最高, 其次为肝脏。注射 hTERT 靶向探针后 1~6 h 内, 肿瘤分布由 $(0.82 \pm 0.16)\% \text{ID/g}$ 增加至 $(0.97 \pm 0.15)\% \text{ID/g}$, 肿瘤与血液和肿瘤与肌肉的放射性摄取比 (T/NT) 分别为 2.62 ± 0.70 和 6.02 ± 0.52 , 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。以上结果提示, $^{99}\text{Tc}^m$ -siRNA 探针对活体肿瘤示踪具有良好的研究前景和潜在的应用价值。

关键词: $^{99}\text{Tc}^m$; 小干扰 RNA; 干扰活性; 生物分布

中图分类号: R817.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7512(2011)02-0065-07

In-vitro Inhibitory Activity and In-vivo Biodistribution of $^{99}\text{Tc}^m$ Radiolabeled Small Interference RNA

KANG Lei¹, WANG Rong-fu¹, YAN Ping¹, ZHANG Chun-li¹,
LIU Meng¹, XU Xiao-jie²

(1. Department of Nuclear Medicine, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China;
2. Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: Small interference RNA (siRNA) was radiolabeled by using the bifunctional chelator of NHS-MAG₃ and SnCl₂ · 2H₂O. After transfected into Hepatocarcinoma HepG2 cells, labeled and unlabeled hTERT-targeted siRNA had the similar inhibitory rate about 76.7% measured by western blotting method. In the biodistribution study, the radioactive accumulation was primarily found in the kidneys, and then in liver. The radioactivity of hTERT-targeted siRNA in tumor increased from $(0.82 \pm 0.16)\% \text{ID/g}$ to $(0.97 \pm 0.15)\% \text{ID/g}$ from 1 to 6 hours after the administration. The uptake ratio of tumor to blood

收稿日期: 2010-12-30; 修回日期: 2011-03-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30870729, 30900374); 国家重点基础研究发展计划("973"计划)资助项目(2006CB705705); 教育部教育振兴行动计划专项(九五工程二期)资助项目(085205)

作者简介: 康磊(1981-), 男, 内蒙古呼和浩特人, 助理研究员(博士), 肿瘤分子及临床核医学专业

通信作者: 王荣福, 教授、博导, E-mail: rongfu_wang2002@yahoo.com.cn

and tumor to muscle were 2.62 ± 0.70 and 6.02 ± 0.52 , respectively, significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). These results indicated that $^{99}\text{Tc}^m$ radiolabeled hTERT-targeted siRNA allows for prospective future and potential application value in the noninvasive visualization of tumor telomerase in vivo.

Key words: $^{99}\text{Tc}^m$; small interference RNA (siRNA); inhibitory activity; biodistribution

恶性肿瘤作为目前严重危害人类生命健康和生存质量的疾病,一直被科学家广泛关注。端粒酶是恶性肿瘤细胞区别于正常细胞的一种生物标记物,其核心成分端粒逆转录酶(Human Telomerase Reverse Transcriptase, hTERT)是端粒酶的限速亚单位,是细胞癌变的关键环节^[1]。随着RNA干扰技术的深入研究,针对hTERT基因的有效RNA干扰序列已被筛选出来,为构建hTERT靶向的RNA探针奠定了基础。已有研究^[2]证实hTERT靶向的反义寡核苷酸探针具备端粒酶体内显像的功能。类似于反义显像技术,可将放射性核素标记的人工合成小干扰RNA(Small Interferene RNA, siRNA)技术引入体内,siRNA的反义链与靶基因通过碱基互补配对原则相结合,使用体外显像设备对其体内的分布情况进行示踪。而且,利用放射性核素对siRNA进行标记,不仅可以起到对标记探针的示踪作用,还能够利用siRNA与基因的特异性靶向结合的特性对靶向基因进行显像研究。

本课题组之前使用NHS-MAG₃这一双功能螯合剂对siRNA进行 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记,获得了较理想的标记结果和体外稳定性^[3]。在此基础上,本研究拟选择hTERT这一肿瘤特征性基因作为靶点,制备 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记的siRNA探针,通过评价其对hTERT高表达的肿瘤细胞的体外干扰活性及体内生物分布,探讨siRNA标记探针在端粒酶内示踪的应用价值。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

电子天平(FA1104);上海精科天平公司产品;恒压恒流器、蛋白电泳仪、湿性电转移仪;北京六一仪器厂产品;AXIMA-CFRplus 电离飞行质谱仪;英国 Kratos Analytical 公司产品;凝胶成像分析系统(AlphaImager-2200);美国 Alpha Innotech 公司产品;二氧化碳培养箱;美国 Thermo Electron 公司产品;暗盒;北京普利莱

基因技术有限公司产品;液氮罐、CO₂罐;东亚公司产品;超净台;美国 Bio-Rad 公司产品。RM905 放射性活度仪;中国计量科学研究院提供;FT-163 放射免疫测量仪;国营 262 厂产品。

1.2 主要材料与试剂

实验组 siRNA 的靶点为 hTERT mRNA 的第 3 119~3 137 位核苷酸(19 bp),即 5'-TTTCATCAGCAAGTTTGG-3'^[4]。对照组 siRNA 以人类无关基因序列为靶点,即 5'-TTCTCCGAACGTGTCACGT-3';由上海吉玛公司化学合成,2'-OMe 修饰,3'端连接 d(TT)基团,5'端连接 6 碳己基及伯胺结构。S-乙酰基-NHS-MAG₃;纯度 > 99.9%,Hnatowich 教授(University of Massachusetts Medical School)惠赠。

兔抗人 TERT、 β -tubulin 多克隆抗体;Santa Cruz 公司;辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 抗体;北京中杉金桥生物技术公司;细胞转染试剂 Lipofectamine 2000、胎牛血清、高糖 DMEM;美国 Invitrogen 公司。新华一号试纸、常用分析纯化学试剂;北京化学试剂公司。 ^{99}Mo - $^{99}\text{Tc}^m$ 发生器;原子高科股份有限公司产品。Sephadex G25;美国 GE Amersham 公司产品。HepG2 肝癌细胞;美国 ATCC 中心提供。

1.3 动物模型

50 只雌性 BALB/c nu/nu 裸鼠,体重(20±4)g,4~6 周龄,SPF 级别饲养;北京大学医学部实验动物中心。将处于对数生长期的 HepG2 细胞接种于裸鼠右侧腋下,SPF 条件下饲养 20 d,肿瘤体积长至约 1 cm³ 进行动物实验。

2 实验方法

2.1 标记探针的制备

将反义链 RNA 与 NHS-MAG₃(N-hydroxysuccinimidyl Derivative of S-Acetyl Mercaptoacetyl triglycine, NHS-MAG₃)混合振荡 1~2 h,与正义链接摩尔比 1:1 退火杂成交成 MAG₃ 耦联的 siRNA 双链。在此 siRNA 双链中加入新

鲜的 SnCl₂ · 2H₂O 及新鲜淋洗的 ⁹⁹Tc^mO₄⁻ 液进行标记。标记反应路线示于图 1。采用 Sephadex G25 对产品进行纯化。纸层析法分析其标

记率和放化纯度;新华一号试纸为固定相,丙酮和生理盐水分别为展开剂。采用质谱法鉴定 MAG₃-RNA 的结构。

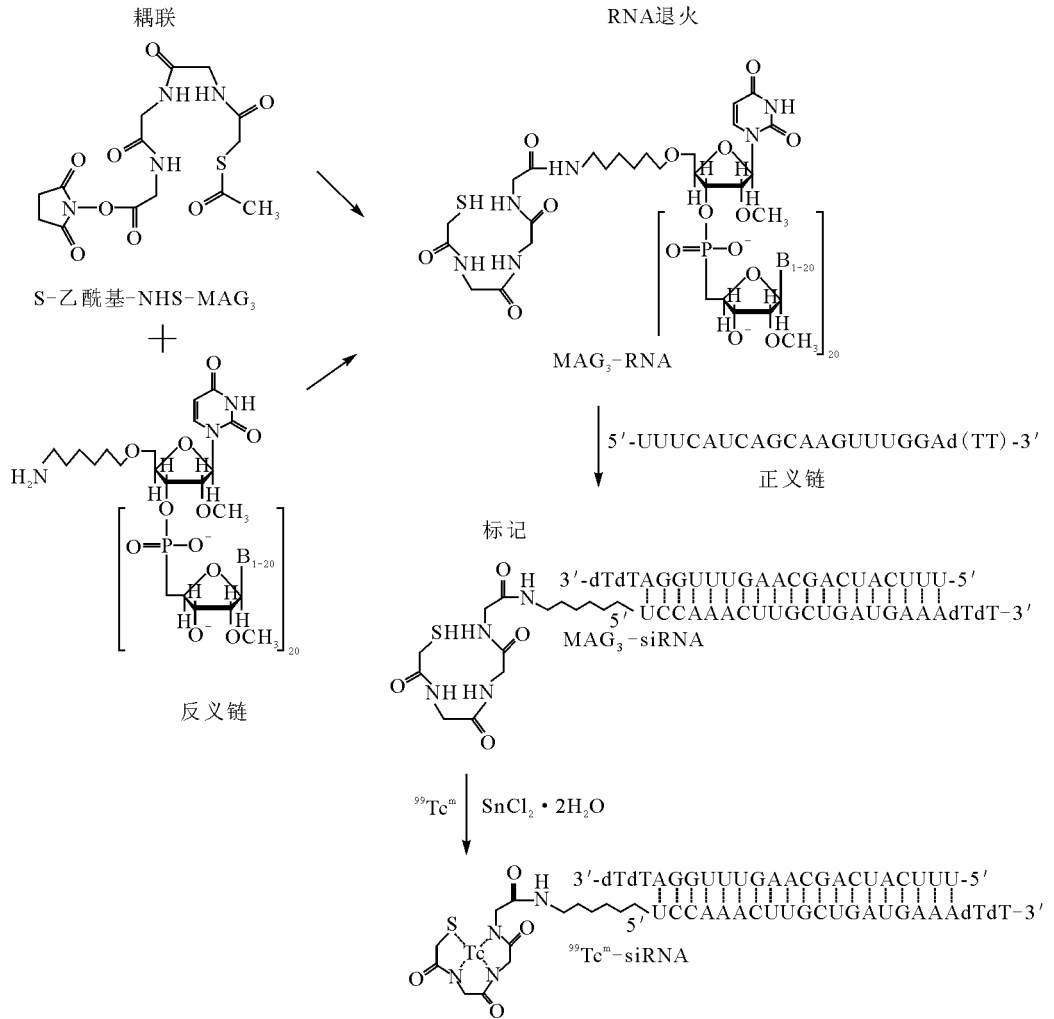


图 1 ⁹⁹Tc^m 标记的 siRNA 反应路线

2.2 体外 hTERT 蛋白抑制实验

使用 Lipofectamine 2000 分别将染脂质体、未标记和 ⁹⁹Tc^m 标记的 siRNA 转染至 HepG2 细胞,72 h 后收集细胞。未转染肿瘤细胞作对照。常规蛋白印迹(Western Blotting, WB)法鉴定 hTERT 和 β-tubulin 的蛋白含量。将聚丙烯酰胺(SDS)加入收集细胞中煮沸 15 min,离心后取上清液进行聚丙烯酰胺差示(SDS-PAGE)凝胶电泳。继而电转移至硝酸纤维素膜上,使用 5%脱脂奶粉于 4 °C 封闭过夜。此后用 5%脱脂奶粉稀释的抗 hTERT 和 β-tubulin 抗体室温孵育 1 h,洗膜 3 次,再孵育以体积比 1 : 10 000 稀

释的辣根过氧化物酶耦联的羊抗兔 IgG,洗膜后用化学发光法显色 5 min,压片显影。

2.3 荷瘤鼠体内的生物分布

50 只荷 HepG2 瘤裸鼠随机均分为两组,每组分别注射 ⁹⁹Tc^m 标记的实验组探针和对照组探针。每只裸鼠尾静脉注射 200 μL (1.85 MBq) ⁹⁹Tc^m-siRNA。分别于注射后 0.5、1、2、4、6 h 摘眼采血 100 μL。脱颈处死后,取心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、胃、小肠、膀胱、骨骼肌、小腿长骨、肿瘤,称重并测定其放射性计数,计算各组织的百分注射剂量率(%ID/g)及肿瘤与非肿瘤放射性摄取比(T/NT)。

2.4 统计学分析

各变量均使用 $\bar{x} \pm s$ 表示。方差分析 ANOVA 法进行数据统计。 P 值小于 0.05 认为具有统计学差异。

3 结果与讨论

3.1 $^{99}\text{Tc}^m$ -siRNA 的制备

NHS-MAG₃ 的耦联产物经质谱鉴定, 鉴定结果示于图 2。耦联前 RNA 的相对分子质量为 7 061.4, 耦联后 MAG₃-RNA 的相对分子质量为 7 307.1, 整合前后的相对分子质量之差与理论值相符, 证实 RNA 分子与 NHS-MAG₃ 的耦

联成功。

NHS-MAG₃ 耦联的 siRNA 双链与 $^{99}\text{Tc}^m$ 在室温下反应 1 h 可得 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记的 siRNA。反应产物中含有三种物质: 游离锝(未被亚锡离子还原的 $^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4^-$)、水解锝($^{99}\text{Tc}^m\text{O}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) 和 $^{99}\text{Tc}^m$ -siRNA。使用丙酮作展开剂时, 游离锝的 R_f 为 0.9~1.0, 水解锝和络合锝的 R_f 为 0~0.1; 使用生理盐水作展开剂时, 水解锝的 R_f 为 0~0.1, 游离锝和络合锝的 R_f 为 0.8~1.0。经计算得到: $^{99}\text{Tc}^m$ -siRNA 的标记率大于 73%, 纯化纯度大于 92%, 比活度达 1.85 TBq/g。

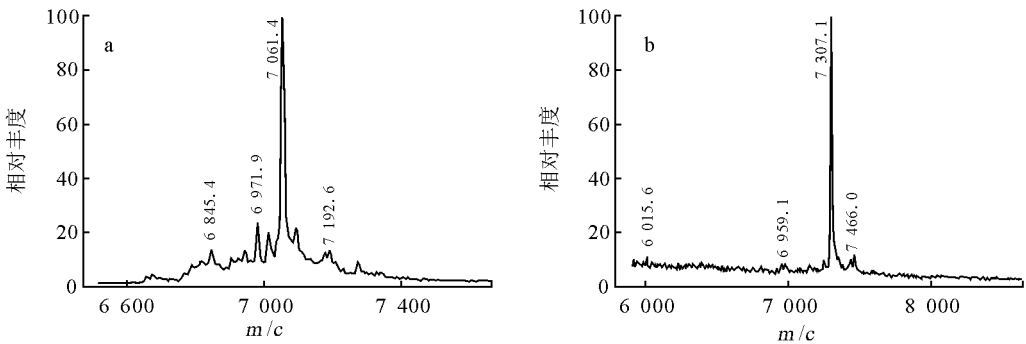


图 2 RNA 相对分子质量质谱分析

a——耦联前;b——耦联后

3.2 hTERT 蛋白抑制实验

蛋白印迹法比较未转染肿瘤细胞、转染脂质体肿瘤细胞、转染未标记实验组 siRNA 肿瘤细胞和转染实验组 $^{99}\text{Tc}^m$ -siRNA 肿瘤细胞的 hTERT 蛋白表达水平。hTERT 蛋白抑制实验示于图 3。由图 3 结果计算可知, hTERT 靶向的实验组 siRNA 对 hTERT 蛋白表达具有显著的抑制效果, 以 β -tubulin 管家蛋白为参照, 转染未标记实验组 siRNA 的肿瘤细胞中蛋白抑制率为 $(76.32 \pm 3.43)\%$, 转染实验组 $^{99}\text{Tc}^m$ -siRNA 的肿瘤细胞中蛋白抑制率为 $(76.78 \pm 2.95)\%$, 二者无统计学差异 ($P > 0.05$)。与未转染和仅转染脂质体的肿瘤细胞相比, 转染实验组 $^{99}\text{Tc}^m$ -siRNA 的细胞其蛋白表达量的平均抑制率为 76.7%。

蛋白抑制结果显示, siRNA 探针在耦联 NHS-MAG₃ 和标记 $^{99}\text{Tc}^m$ 后的干扰活性无明显改变, 说明 siRNA 反义链 5' 端连接的六碳己基、氨基、MAG₃ 基团的耦联及 $^{99}\text{Tc}^m$ 的标记未

影响 siRNA 分子的干扰活性以及靶向结合能力。这可能由于采用 2'-OMe 修饰 siRNA 能够提高其核酸酶抵抗力, 并降低激发免疫反应、脱靶效应的可能性^[5], NHS-MAG₃ 基团的相对分子质量小、结构简单, 对标记分子的空间构型、结合区域、活性位点的影响小, 保证了探针的生物活性^[6]。

3.3 生物分布

$^{99}\text{Tc}^m$ 标记的实验组 siRNA 和对照组 siRNA 在各组织的放射性分布结果分别列于表 1 和表 2。对比表 1 和表 2 可知, 两种探针在肾脏的放射性摄取在各时间点均为最高, 其次为肝脏。血液的放射性分布在注射后初始较高, 但是随着时间延长而迅速下降, 在 6 h 时最低。血供丰富的脏器(例如心脏、肺脏、脾脏和骨髓)其放射性分布情况与血液类似, 均随时间延长而持续降低。胃肠系统包括胃和小肠的放射性分布均

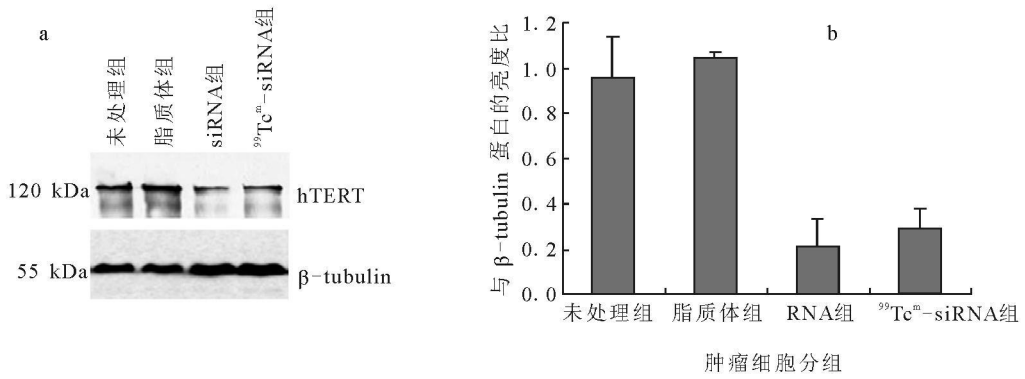


图 3 各组细胞的 hTERT 蛋白表达

a——各组细胞的 hTERT 和 β-tubulin 蛋白表达结果；b——hTERT 与 β-tubulin 蛋白的条带亮度比

表 1 ⁹⁹Tc^m 标记的实验组 siRNA 在荷 HepG2 瘤裸鼠体内生物分布 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组织或器官	放射性摄取率/(%ID · g ⁻¹)				
	0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h
心脏	0.76 ± 0.10	0.43 ± 0.05	0.41 ± 0.14	0.38 ± 0.10	0.32 ± 0.06
肝脏	7.68 ± 0.84	3.08 ± 0.32	1.63 ± 0.38	1.56 ± 0.12	0.99 ± 0.05
脾脏	0.78 ± 0.15	0.50 ± 0.11	0.41 ± 0.07	0.36 ± 0.05	0.25 ± 0.08
肺脏	1.36 ± 0.09	1.03 ± 0.23	0.98 ± 0.10	0.96 ± 0.08	0.65 ± 0.15
肾脏	9.31 ± 2.68	5.80 ± 2.80	4.47 ± 0.85	2.72 ± 0.63	1.99 ± 0.59
胃	3.06 ± 0.84	1.66 ± 0.10	1.44 ± 0.40	1.24 ± 0.27	1.20 ± 0.35
小肠	4.20 ± 1.93	2.77 ± 0.76	2.10 ± 1.24	0.95 ± 0.41	0.64 ± 0.07
膀胱	2.60 ± 0.78	2.08 ± 0.33	2.39 ± 0.41	3.42 ± 2.30	3.56 ± 0.49
骨骼肌	0.61 ± 0.15	0.31 ± 0.04	0.58 ± 0.49	0.22 ± 0.05	0.17 ± 0.01
长骨	1.06 ± 0.21	0.59 ± 0.06	0.39 ± 0.19	0.19 ± 0.05	0.10 ± 0.03
血液	0.88 ± 0.14	0.52 ± 0.03	0.44 ± 0.06	0.43 ± 0.08	0.40 ± 0.06
肿瘤	1.08 ± 0.07	0.82 ± 0.16	0.71 ± 0.14	0.74 ± 0.15	0.97 ± 0.15

表 2 ⁹⁹Tc^m 标记的对照组 siRNA 在荷 HepG2 瘤裸鼠体内生物分布 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组织或器官	放射性摄取率/(%ID · g ⁻¹)				
	0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h
心脏	0.68 ± 0.37	0.34 ± 0.09	0.27 ± 0.07	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.05
肝脏	4.22 ± 0.94	2.20 ± 0.92	1.27 ± 0.32	0.88 ± 0.12	0.49 ± 0.15
脾脏	1.68 ± 0.66	0.51 ± 0.23	0.38 ± 0.12	0.27 ± 0.04	0.13 ± 0.08
肺脏	1.13 ± 0.44	0.76 ± 0.10	0.48 ± 0.13	0.23 ± 0.08	0.22 ± 0.04
肾脏	10.17 ± 3.86	8.20 ± 1.61	5.74 ± 1.90	2.14 ± 0.86	1.85 ± 0.58
胃	0.87 ± 0.35	2.21 ± 0.72	1.41 ± 0.50	0.86 ± 0.24	0.52 ± 0.21
小肠	1.66 ± 0.72	0.80 ± 0.05	0.41 ± 0.13	0.25 ± 0.04	0.23 ± 0.02
膀胱	2.83 ± 0.78	1.77 ± 0.76	0.32 ± 0.09	0.22 ± 0.11	0.28 ± 0.17
骨骼肌	1.18 ± 0.36	0.31 ± 0.07	0.21 ± 0.08	0.11 ± 0.04	0.08 ± 0.02
长骨	1.01 ± 0.71	0.35 ± 0.03	0.24 ± 0.04	0.19 ± 0.00	0.14 ± 0.05
血液	2.55 ± 0.81	0.93 ± 0.36	0.56 ± 0.17	0.33 ± 0.02	0.33 ± 0.14
肿瘤	1.88 ± 0.05	0.66 ± 0.19	0.43 ± 0.09	0.27 ± 0.04	0.16 ± 0.06

由表 1 可见,注射 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记的实验组 siRNA 探针后,肿瘤的放射性分布在 0.5 h 时低于血液和其他脏器。但在 1 h 后,肿瘤的放射性分布随时间延长而逐渐增加,由 $(0.82 \pm 0.16)\% \text{ID/g}$ 增加至 $(0.97 \pm 0.15)\% \text{ID/g}$ 。相比之下,血供丰富的脏器其放射性分布均随时间延长不断降低,特别是血液的分布降低较快。可见,实验组 siRNA 在肿瘤部位的滞留保持稳定的水平。注射后 0.5 h 左右,放射性探针的生物分布主要反映的是在血池相的分布,属于非特异性,因而血液及供血丰富的脏器其放射性分布较高。随着时间延长,血液中的标记探针逐渐与肿瘤靶点结合,导致探针在肿瘤中的分布逐渐增加,而在其他脏器逐渐降低。

由表 2 可见,注射 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记的对照组 siRNA 后,肿瘤的放射性分布随时间延长而不断降低,0.5 h 时为 $(1.88 \pm 0.05)\% \text{ID/g}$,到 6 h 时仅为 $(0.16 \pm 0.06)\% \text{ID/g}$ 。其他脏器的放射

性分布也呈现下降趋势,可见对照 siRNA 在肿瘤中的分布和其他脏器的分布相近,无明显特异性。

对比实验组和对照组可知,两探针在肿瘤部位的放射性分布存在显著性差异($P < 0.05$)。实验组在肿瘤部位的分布不断增加,而对照组不断降低。以上结果提示,hTERT 靶向的 siRNA 在肿瘤靶向浓聚的特异性。

实验组和对照组 T/NT 分别列于表 3 和表 4。表 3 和表 4 显示,除肝脏、肺脏、小肠骨骼肌外,实验组和对照组探针在其他组织的 T/NT 6 h 内均有显著性差异($P < 0.05$)。在注射实验组探针后第 6 h 时,所有脏器的 T/NT 均显著高于对照组($P < 0.05$),其肿瘤与血液和肿瘤与骨骼肌的 T/NT 分别为 2.62 ± 0.70 和 6.02 ± 0.52 ,相比之下,对照组的肿瘤与血液的 T/NT 在注射后各时间点均未超过 1.00。

表 3 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记的实验组 siRNA 注射后 6 h 内的 T/NT ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组织或器官	T/NT				
	30 min	1 h	2 h	4 h	6 h
肿瘤与心脏	1.44±0.13	1.46±0.09	1.71±0.59	1.77±0.45	3.29±0.64
肿瘤与肝脏	0.14±0.01	0.20±0.03	0.40±0.12	0.48±0.10	1.04±0.22
肿瘤与脾脏	1.44±0.26	1.31±0.23	1.56±0.47	1.67±0.53	4.69±1.46
肿瘤与肺脏	0.79±0.03	0.71±0.14	0.62±0.07	0.79±0.22	1.63±0.32
肿瘤与肾脏	0.13±0.03	0.16±0.09	0.14±0.01	0.29±0.10	0.57±0.17
肿瘤与胃	0.37±0.07	0.37±0.01	0.43±0.03	0.63±0.16	0.94±0.28
肿瘤与小肠	0.40±0.24	0.24±0.06	0.42±0.20	0.98±0.46	1.65±0.45
肿瘤与膀胱	0.46±0.12	0.30±0.02	0.27±0.08	0.22±0.18	0.39±0.04
肿瘤与骨骼肌	1.95±0.51	2.01±0.17	1.76±0.76	3.68±0.92	6.02±0.52
肿瘤与长骨	1.07±0.22	1.06±0.04	3.23±2.02	7.25±0.30	11.88±2.55
肿瘤与血液	1.24±0.11	1.20±0.09	1.39±0.24	1.78±0.20	2.62±0.70

表 4 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记的对照组 siRNA 注射后 6 h 内的 T/NT ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组织或器官	T/NT				
	30 min	1 h	2 h	4 h	6 h
肿瘤与心脏	0.73±0.27	1.97±0.24	1.60±0.10	1.74±0.35	1.08±0.66
肿瘤与肝脏	0.16±0.06	0.34±0.09	0.35±0.07	0.31±0.03	0.38±0.21
肿瘤与脾脏	0.34±0.29	1.61±0.79	1.22±0.24	1.01±0.16	1.85±0.95
肿瘤与肺脏	0.34±0.26	0.93±0.42	0.93±0.09	1.43±0.63	0.80±0.43
肿瘤与肾脏	0.11±0.07	0.08±0.02	0.08±0.02	0.16±0.08	0.09±0.03
肿瘤与胃	0.53±0.22	0.33±0.11	0.35±0.08	0.35±0.14	0.38±0.21
肿瘤与小肠	0.69±0.39	0.85±0.31	1.12±0.18	1.13±0.21	0.72±0.30
肿瘤与膀胱	0.61±0.39	0.55±0.39	1.41±0.14	1.43±0.35	0.83±0.42
肿瘤与骨骼肌	1.52±0.93	2.55±0.67	2.52±0.88	2.82±0.78	2.21±1.19
肿瘤与长骨	1.30±0.86	2.53±0.73	2.59±1.22	3.23±0.40	1.50±1.04
肿瘤与血液	0.20±0.01	0.78±0.21	0.83±0.17	0.95±0.10	0.59±0.34

以上结果提示,⁹⁹Tc^m 标记的实验组 siRNA 探针在体内十分稳定,且在肿瘤部位显示出浓聚效果,其清除速率比血液清除慢,使得肿瘤的靶本底增加,说明 siRNA 探针具有在体内特异性靶向结合的能力。

作为小分子水溶性探针,siRNA 在肾脏、尿液的分布较高,可能是由于肾脏近曲小管对核酸分子强烈的重吸收作用而导致^[7]。肾脏的清除速度较肝脏快,迅速降低本底以提高探针的靶与本底的放射性之比,有利于靶向示踪,特别是靶向显像,但这同时限制了核酸探针在泌尿系统或肝脏肿瘤的示踪应用。随着显像时间延长,肝、肾的放射性分布逐渐减低,而肿瘤的放射性相对稳定,从而提高了肿瘤与非肿瘤部位的放射性摄取比。因此,双时相或者延迟采集法可以提高靶与本底的放射性之比^[8]。

4 结 论

本研究通过体外基因干扰活性和体内生物分布实验,证明⁹⁹Tc^m 标记的 siRNA 探针在体外和体内均具备与靶向基因结合的特性。⁹⁹Tc^m 标记实验组 siRNA 探针不仅能够与活体 hTERT 表达阳性的肿瘤特异性地结合,而且可以对 siRNA 探针的体内分布进行实时、无创、动态的示踪。因此,⁹⁹Tc^m 标记的 siRNA 探针对活体肿瘤示踪具有良好的研究前景和潜在的应用价值。

致谢:感谢 Hnatowich 教授赠与 NHS-MAG₃。

参考文献:

- [1] 康磊,王荣福. 人端粒酶逆转录酶在肿瘤靶向分子显像中的研究进展 [J]. 中华核医学杂志, 2010, 34(1): 68-71.
- [2] Liu M, Wang RF, Zhang CL, et al. Noninvasive imaging of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) messenger RNA with ⁹⁹Tc^m-radiolabeled antisense probes in malignant tumors [J]. J Nucl Med, 2007, 48(12): 2 028-2 036.
- [3] 康磊,王荣福,闫平,等. ⁹⁹Tc^m 标记的小干扰 RNA 探针的制备及稳定性评价[J]. 核化学与放射化学, 2010, 32(6): 348-353.
- [4] Masutomi K, Yu EY, Khurts S, et al. Telomerase maintains telomere structure in normal human cells [J]. Cell, 2003, 114(2): 241-253.
- [5] Bramsen JB, Laursen MB, Nielsen AF, et al. A large-scale chemical modification screen identifies design rules to generate siRNAs with high activity, high stability and low toxicity [J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(9): 2 867-2 881.
- [6] 刘萌,王荣福. S-乙酰基-NHS-MAG₃ 在反义显像研究中的应用及进展[J]. 同位素, 2004, 17(3): 164-168.
- [7] van de Water FM, Boerman OC, Wouterse AC, et al. Intravenously administered short interfering RNA accumulates in the kidney and selectively suppresses gene function in renal proximal tubules [J]. Drug Metab Dispos, 2006, 34(8): 1 393-1 397.
- [8] McCaffrey AP, Meuse L, Pham TT, et al. RNA interference in adult mice [J]. Nature, 2002, 418(6 893): 38-39.